

ПЕРЕБІГ ООГЕНЕЗУ ГІРЧАКА ЄВРОПЕЙСЬКОГО *RHODEUS AMARUS* (BLOCH, 1782) ЗАПОРІЗЬКОГО (ДНІПРОВСЬКОГО) ВОДОСХОВИЩА

Єрух М.М., Маренков О.М.

Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара
пр. Науки, 72, 49045, м. Дніпро
yerukhnikolay@gmail.com, gidrobions@gmail.com

У статті наведено результати комплексного дослідження перебігу оогенезу гірчака європейського *Rhodeus amarus* (Bloch, 1782), риби з родини ахейлогнатових (Acheilognathidae), в природних умовах Запорізького (Дніпровського) водосховища. Метою даної роботи було дослідження особливостей перебігу оогенезу на основі прижиттєвих та гістоморфологічних досліджень ікри риби. Зокрема, визначення нормальної гістологічної картини розвитку гонад та статевих клітин на різних стадіях розвитку та встановлення морфометричних параметрів ооцитів. Вперше охарактеризовано повний цикл дозрівання яйцеклітин у самиць гірчака європейського в природному середовищі. Проведено морфометричний аналіз ооцитів на різних стадіях розвитку – від початку вакуолізації до завершення вітелогенезу та овуляції. Дослідження проводили у рамках базового фінансування науково-дослідних робіт із використанням сучасних іхтіологічних методик. Встановлено асинхронність гаметогенезу, що є типовою ознакою для видів з порційним нерестом. Особливу увагу приділено будові зони *zona radiata* – оболонки ооцитів, адаптованої до прикріплення ікри гірчака всередині мантийної порожнини двостулкових моллюсків, у яких відбувається інкубація. Описано характерні мікроструктурні особливості оболонки, зокрема наявність клейкого гелеподібного шару та ворсинчастих виростів. За результатами прижиттєвих спостережень виявлено випадки аномального розвитку статевих клітин – зокрема формування двоядерних незапліднених яйцеклітин, що може свідчити про порушення мейозу або вплив негативних екологічних чинників. Отримані результати мають важливе значення для репродуктивної біології риби, а також можуть бути використані в програмах екологічного моніторингу та збереження біорізноманіття прісноводних екосистем України. *Ключові слова:* риби, коропові, водосховище, оогенез, *zona radiata*, двоядерні ооцити, гістологія, гонади, вакуолізація, ікра, морфометрія.

The European bitterling *Rhodeus amarus* (Bloch, 1782) oogenesis dynamic in the Zaporizke (Dniprovske) Reservoir. Yerukh M., Marenkov O.

The article presents the results of a comprehensive study on the oogenesis of the European bitterling *Rhodeus amarus* (Bloch, 1782), a fish belonging to the Acheilognathidae family under the natural conditions of the Zaporizke (Dniprovske) reservoir. The aim of this work was to study the features on the oogenesis based on both intravital and histomorphological analyses of fish eggs. In particular, to determine the normal histological pattern of gonad and germ cell development at different stages of development and to establish morphometric parameters of oocytes. The full cycle of oocyte maturation in female of the European bitterling in the wild is described for the first time. A morphometric assessment of oocytes at various developmental stages – from the onset of vacuolization to the completion of vitellogenesis and ovulation – was performed. The work was carried out within the framework of basic funding for research works using modern ichthyological methods. The asynchronous nature of gametogenesis was confirmed, which is a typical feature of species with fractional spawning. Special attention is given to the structure of the *zona radiata*, the oocyte envelope adapted for attachment bitterling eggs within the mantle cavity of bivalve mollusks where incubation occurs. Characteristic microstructural features of the membrane are described, including the presence of an adhesive gel-like layer and villous projections. Intravital observations revealed cases of abnormal gamete development – specifically, the formation of binucleated unfertilized oocytes, which may indicate meiotic disruption or the influence of adverse environmental factors. The obtained results are of great importance for the reproductive biology of fish and can be applied in ecological monitoring programs and biodiversity conservation efforts in freshwater ecosystems of Ukraine. *Key words:* fish, cyprinids, reservoir, oogenesis, *zona radiata*, binucleated oocytes, histology, gonads, vacuolization, eggs, morphometry.

Постановка проблеми. Попри значну увагу до екології розмноження гірчака при моніторингових дослідженнях водойм, особливості перебігу оогенезу виду лишаються недостатньо вивченими. Клітинні механізми оогенезу у гірчака європейського у водоймах України раніше фактично не досліджувалися, що зумовило актуальність даного дослідження. Саме через це метою даної роботи було дослідження особливостей перебігу оогенезу гірчака європейського *Rhodeus amarus* (Bloch, 1782) в умовах Запорізького (Дніпровського) водосховища. Зокрема, визначення нормальної гістологічної картини розвитку гонад та

статевих клітин на різних стадіях розвитку та встановити морфометричні параметри ооцитів.

Актуальність дослідження. Дослідження репродуктивних особливостей гірчака європейського *Rhodeus amarus* (Bloch, 1782) та вивчення його адаптації до зміни умов існування мають важливе теоретичне і практичне значення в контексті збереження цього виду як такого, що підлягає охороні в ЄС згідно до переліку видів із третього додатку Бернської конвенції [1] та Резолюції 6 цієї ж конвенції [2], а також Директиви 92/43/ЄЕС про охорону природних середовищ існування, дикої флори

та фауни, як виду, що становить особливий інтерес для ЄС [3]. Одним із важливих аспектів дослідження репродуктивних особливостей є вивчення нормальної гістологічної картини розвитку гонад та статевих продуктів у організмі виду в умовах Запорізького (Дніпровського) водосховища.

Зв'язок авторського доробку із важливими науковими та практичними завданнями. Дослідження проводили в межах базового фінансування науково-дослідних робіт Міністерством освіти і науки України «Виконання завдань перспективного плану розвитку наукового напрямку «Біологія та охорона здоров'я» Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара» (договір № БФ/6-2021 від 01.06.2021 року, номер державної реєстрації: № 0122U000059).

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Гірчак європейський *Rhodeus amarus* (Bloch, 1782) – прісноводна риба, що відноситься до родини ахейлогнатових (Acheilognathidae), статевозрілі особини зазвичай мають довжину близько 4–7 см [4]. Це доволі розповсюджений та чисельний в Запорізькому (Дніпровському) водосховищі вид, що відомий завдяки своїй цікавій репродуктивній поведінці, тісно пов'язаний із прісноводними двостулковими моллюсками [5, 6, 7, 8].

Нерест парний. Перед нерестом самки, з подовженими яйцекладами, залучені самцями, оглядають обраних самцями моллюсків, займаючи так звану «оглядову позу» (під кутом приблизно 75° до вихідного сифона моллюска) [9]. Потім самка випускає порцію від однієї до шести ікринок (за один акт нересту) [10, 11, 12, 13] через м'язовий конічний орган до базального отвору подовженого яйцекладу, за яким накопичується сеча. Різко змінюючи положення самка вводить конічний орган у отвір вихідного сифону моллюска та, стискаючи конічний орган, відкладає до мантийної порожнини моллюска ікринки, проштовхуючи їх сечею під тиском по яйцекладу. Яйцеклад під тиском сечі твердіє і розгортається до мантийної порожнини моллюска. При цьому самці можуть випускати сперму через вхідний сифон моллюска для запліднення ікри як до, так і одразу після зустрічі з самкою [9].

Через те, що наявність у водоймі певних видів моллюсків (частіше з родів *Unio*, *Anodonta* і *Dreissena*) завжди є критичною умовою для проходження нересту [5, 6, 7, 8], гірчака можна використовувати як об'єкт для вивчення еволюційної та поведінкової біології риб [14, 15], зокрема, як модель для вивчення симбіотичних відносин між рибами та моллюсками, та як вид-індикатор стану біоценозів [16].

Нерест гірчака порційний, масовий нерест відбувається з кінця квітня і може тривати до початку серпня, проте часто залежить від температури води та визначається фотоперіодом [17, 18]. За нерестовий сезон при сприятливих умовах самка здатна відкласти у сумі понад кількості ікринок, хоча інди-

відуальна плодючість оцінюється в межах від 100 ікринок до 500 ікринок в залежності від віку та вгодованості (маси) [9, 19].

Статева структура популяції в Запорізькому (Дніпровському) водосховищі: в червні 2024 р. співвідношення самців до самок становило 1:3, спостерігали домінування самок, відсоток яких сягав 75,93 % від загального числа особин в уловах; в серпні того ж року співвідношення самців та самок становило як 1:2.

Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми, котрим присвячується означена стаття. В Україні під час дослідження іхтіофауни мало уваги приділяється вивченню репродуктивних особливостей видів, зокрема, гірчака європейського. Зазвичай в роботах вказується наявність виду в іхтіологічних пробах або вказується чисельність та біомаса виду у водоймі, подекуди надається інформація про біологічні показники виду [20, 21, 22].

При аналізі літератури присвяченій питанням відтворення гірчака ряд авторів надають показники плодючості та вказують величини гонадо-соматичного індексу (ГСІ), зазвичай без проведення гістологічних досліджень, що на нашу думку вкрай важливо для розуміння репродуктивної біології виду та проведенні екологічного моніторингу. Саме вивчення нормальної гістологічної картини розвитку гонад та статевих клітин, а також резорбційних процесів у організмі виду в умовах Запорізького (Дніпровського) водосховища присвячена дана наукова робота.

Новизна. Уперше визначено нормальну гістоморфологічну картину розвитку гонад та статевих клітин у організмі самиць гірчака європейського в природних умовах України на прикладі Запорізького (Дніпровського) водосховища. Встановлено морфологічні закономірності дозрівання ооцитів та підтверджено асинхронність перебігу гаметогенезу, характерну для риб, які відкладають ікру порційно.

Методологічне або загальнонаукове значення. Матеріалом для дослідження слугували статевозрілі самиці гірчака європейського *R. amarus* (Bloch, 1782), виловлені на літоральних ділянках Запорізького (Дніпровського) водосховища у весняно-осінній період 2024 року. Риб відловлювали десятиметровим мальковим неводом з капронової делі, з кроком вічка 4 мм. Відбір проб проводили на наступних ділянках: о. Монастирський (48°46040 N, 35°08086 E; 48°45950 N, 35°08456 E), с. Одиноківка (Самарська затока Запорізького (Дніпровського) водосховища, 48°50602 N, 35°18871 E), с. Старі Кодакі (48°37608 N, 35°14858; 48°36553 N, 35°14774 E), с. Військове (48°17720 N, 35°17014 E).

Біологічний аналіз риб здійснювали згідно загальноприйнятих класичних іхтіологічних методик [23]. Гірчаків розподіляли за віковими класами, підраховували кількість особин кожної вікової групи, визначали стать особин. Вимірювання проводили з точні-

стю до 1 мм. Масу визначали з точністю до 0,01 г.

Біологічному аналізу піддавалися статевозрілі трилітки (2+) самиць гірчака. Середньовиважена промислова довжина самиць гірчака (2+) становила $5,04 \pm 1,91$ см, маса – $2,96 \pm 0,34$ г.

Ікринки риб аналізували як прижиттєво, так і з використанням гістологічних зрізів. Для гістоморфологічної оцінки стану статевих клітин самиць риб проводили прижиттєвий відбір яйцеклітин. Ікринки вилучали із живих щойно виловлених самиць. Яйцеклітини отримували шляхом легкого стискання черевної стінки для отримання ікри, якщо ікринки були вільні в порожнині яйцепроводу, але таким способом можна отримати лише зрілі ікринки, готові до запліднення. Для дослідження ікринок інших стадій їх відбирали шляхом розтину черевної порожнини самиць з вилученням ікри з яєчника за допомогою пінцета або скальпеля. Ікринки переносили на предметне скло в краплині води (або фізіологічного розчину 0,9 % NaCl). Накривали покривним склом, уникаючи надмірного стискання.

Отримані клітини одразу досліджували під світловим мікроскопом MICROmed Fusion FS-7620 (MICROmed, Китай, 2024) у нативному вигляді для збереження клітинних структур та компонентів жовтка.

Для проведення гістоморфологічних аналізів яєчників риб фіксували у 4 %-му розчині формаліну, а потім в лабораторії виготовляли гістологічні зрізи яєчників для мікроскопії. Для виготовлення зрізів яєчників використовувалися мікротом «Thermo scientific microm HM 325» та «MZP-01 Tehnom». Отримані зрізи фарбували гематоксилін-еозином [24]. Пофарбовані гістологічні препарати досліджували за допомогою мікроскопу MICROmed Fusion FS-7620 (MICROmed, Китай, 2024) та фотографували цифровою USB-камерою адаптером для мікроскопа SIGETA M3CMOS 25000 (25.0 MP, виробник: SIGETA, Україна/Китай, 2023). Для опису клітин використовували атласи гістології риб [25, 26, 27].

Цитометричний аналіз розмірів статевих клітин проводили з точністю до 0,01 мкм за допомогою програмного забезпечення ToupView v. 3.5 (ToupTek Photonics, Китай).

Всі роботи з дослідними тваринами виконували згідно правил біоетики із дотриманням Європейської Конвенції «Про гуманне ставлення до лабораторних тварин», «Загальних принципів експериментів на тваринах» та відповідно до «Положення про використання тварин в біомедичних експериментах» [28, 29, 30]. Локальний комітет – Біоетичний комітет біолого-екологічного факультету ДНУ протокол № 3 від 10.04.2024 року.

Цифрові дані обробляли за допомогою програмних пакетів Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation, США) та Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). за методами статистики.

Виклад основного матеріалу. При прижиттєвому дослідженні ікринок досить ефективно виявляли ядро, жовткові включення та структуру оболонки ікринки (zona radiata). При аналізі яйцеклітин ядро виявляли як світлу або слабо забарвлену структуру у центрі або на периферії клітини (рис. 1.); zona radiata – як помітну щільну шарувату структуру оболонки ікринки. Жовткові включення відмічали у вигляді гранул або сферичних тіл різної щільності; при високому збільшенні можна було ідентифікувати жовткові пластинки.

За такого дослідження можна виявляти аномалії розвитку яйцеклітин – наприклад, фіксувати наявність двох ядер як ознаки порушення оогенезу або патології дозрівання яйцеклітини, фрагментації жовтка, несиметричності оболонки тощо.

У більшості риб зріла незапліднена ікра перебуває на стадії метафази другого мейотичного поділу. Під час дозрівання ооциту його велике ядро зміщується до периферії яйцеклітини. Ооцити риб переважно однадерні; двоядерні яйцеклітини зустрічаються вкрай рідко. При дослідженні нативних препаратів ікринок гірчака нами виявлено випадок появи двоядерного ооциту (рис. 2).

Така аномалія може проявитися по-різному: іноді спостерігають два ядерця в незрілому ооциті, або ж два пронуклеуси у вже дозрілій, але незаплідненій ікринці. Важливо відрізнити справжню двоядерність від нормальних структур: наприклад, у риб на ранніх стадіях оогенезу в одному ядрі можуть бути численні ядерця (нуклеолі), розташовані по периферії, але це одне ядро. Натомість двоядерний ооцит має саме дві окремі ядерні оболонки в спільній цитоплазмі.

Такі ооцити зазвичай бувають аномально великими (гігантськими) через злиття цитоплазми двох клітин або утримання подвійного набору хромосом. Вони не здатні до нормального розвитку і при заплідненні дають нежиттєздатні ембріони (наприклад, триплоїдії) [31]. Отже, у риб двоядерна ікринка вважається відхиленням від норми і, як правило, не здатна дати здорове потомство.

Існує кілька механізмів, які можуть призвести до виникнення двоядерної яйцеклітини ще до запліднення. Найпоширеніша причина – збій у процесі мейозу, коли ядерний матеріал неправильно розподіляється. Наприклад, якщо перше полярне тільце не відокремилось належним чином, або його ядро реінтегрувалось назад в ооцит, у клітині залишаться два гаплоїдних ядра замість одного. Така незапліднена двоядерна ікринка, що виникла через мейотичну помилку, зазвичай залишається нерозвиненою і деградує. Наявність паразитів або патологічних процесів в яєчнику може призводити до мультіядерності. Найяскравіший приклад – паразит *Polypodium* в ооцитах осетрових, у яких заражений ооцит практично містить сторонню двоядерну клітину [32].

Забруднення водой важкими металами, пестицидами, ендокринними деструкторами може викли-

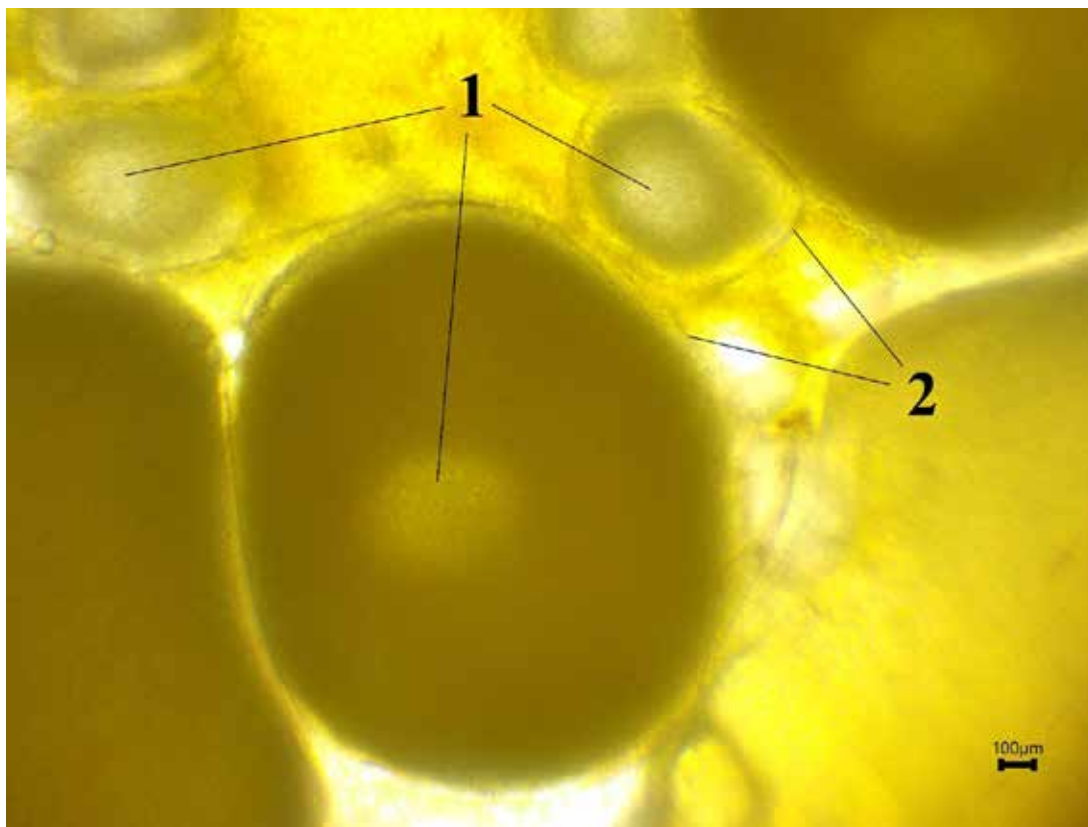


Рис. 1. Нативний препарат ікринок гірчака європейського
1 – ядро, 2 – фолікулярна оболонка. Масштабна лінійка = 100 μm (зб. 40х)

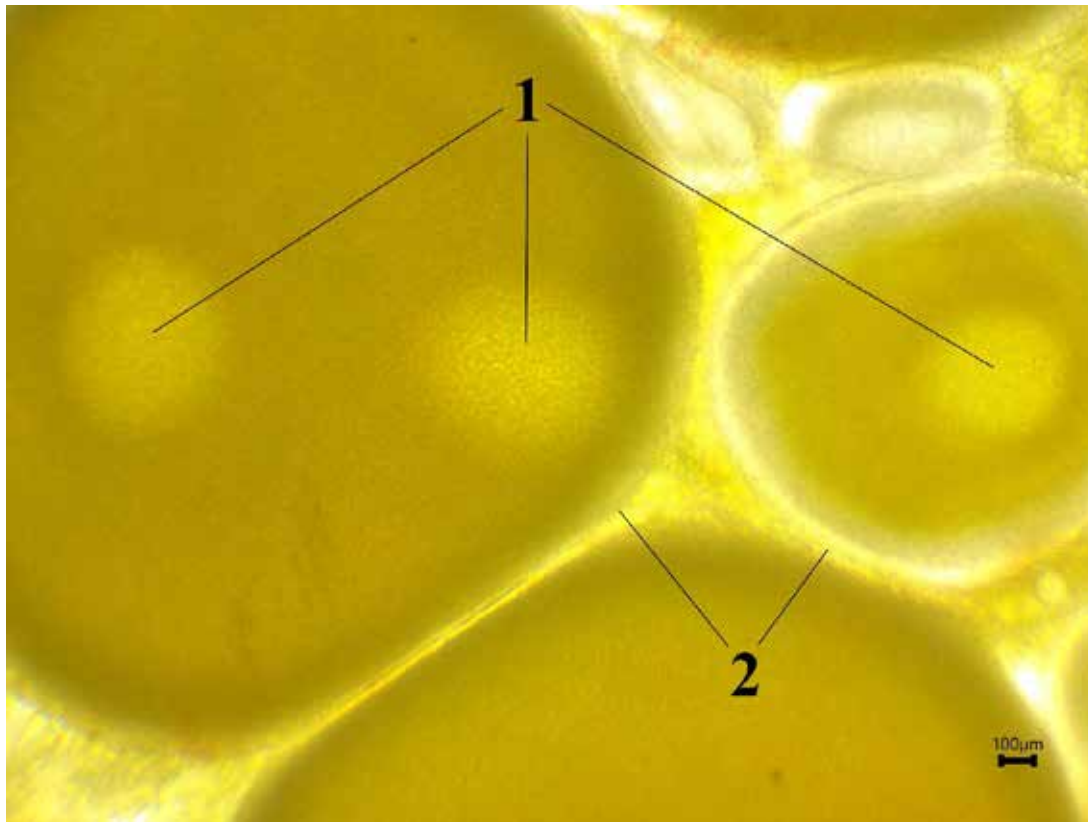


Рис. 2. Двоядерна (зліва) та одноподвійна (справа) ікринки гірчака
1 – ядро, 2 – фолікулярна оболонка. Масштабна лінійка = 100 μm (зб. 40х)

кати генетичні і цитологічні аномалії у статевих клітинах риб. Доведено, що полютанти індукують різні ядерні аномалії у клітинах риб, наприклад, появу мікроядер, фрагментацію хромосом, а також двоядерність клітин [33].

Зазвичай це спостерігається на соматичних клітинах (еритроцитах, зябровому епітелії) як індикатор цитотоксичності, але подібні ушкодження можуть торкатися і ооцитів [33]. Токсини здатні порушувати веретено поділу або пошкоджувати ДНК, що може призводити до неповного поділу ядра. Наприклад, підвищений вміст важких металів корелює з оваріальними деформаціями і ознаками апоптозу в гонадах риб [34].

Вищезазначені чинники зрештою зводяться до того, що двоядерний ооцит – це наслідок збою нормального перебігу оогенезу. Він може бути спричинений внутрішніми (генетичними або клітинними) порушеннями або зовнішніми (паразити, токсини, радіація тощо) чинниками. Наявність двох ядер у незаплідненій яйцеклітині однозначно розцінюється як відхилення від нормального розвитку ооциту. У межах норми зріла ікринка має лише один гаплоїдний набір хромосом і, відповідно, не більше одного ядра (пронуклеуса). Двоядерність вказує на порушення механізмів клітинного поділу. З точки зору біології розвитку, така ікра не виконує своєї функції – вона

або не запліднюється взагалі, або при заплідненні дає нежиттєздатний ембріон.

Zona radiata – це оболонка, що оточує ооцит у кісткових риб (Teleostei), яка формується під час вітеллогенезу між плазмалею ооцита та фолікулярним шаром ікринок. Під мікроскопом *zona radiata* часто має характерну радіальну посмугованість, зумовлену наявністю порових каналців – дрібних каналів, що пронизують оболонку. Через ці пори мікроворсинки ооциту та відростки фолікулярних клітин контактують між собою, забезпечуючи живлення й сигнальний обмін під час оогенезу [35]. Функціонально *zona radiata* відіграє ключову роль у захисті ікри та процесі запліднення. Міцна волокниста структура *zona radiata* служить механічним захистом яйця від фізичних ушкоджень, а її щільний зовнішній шар перешкоджає хімічним агентам і патогенам проникати до ембріона

Гістологічно *zona radiata* добре розрізняється на зрілих ооцитах: під час росту яйцеклітини вона відкладається у вигляді гомогенного шару, що поступово потовщується впродовж вітеллогенезу. При аналізі свіжих ікринок під світловим мікроскопом внутрішня зона виглядала радіально посмуговою (через порові каналці), тоді як зовнішня – більш темна і тонка (рис. 3).

Гістологічні дослідження близького виду гірчака амурського *Rhodeus sericeus* (який раніше вважали

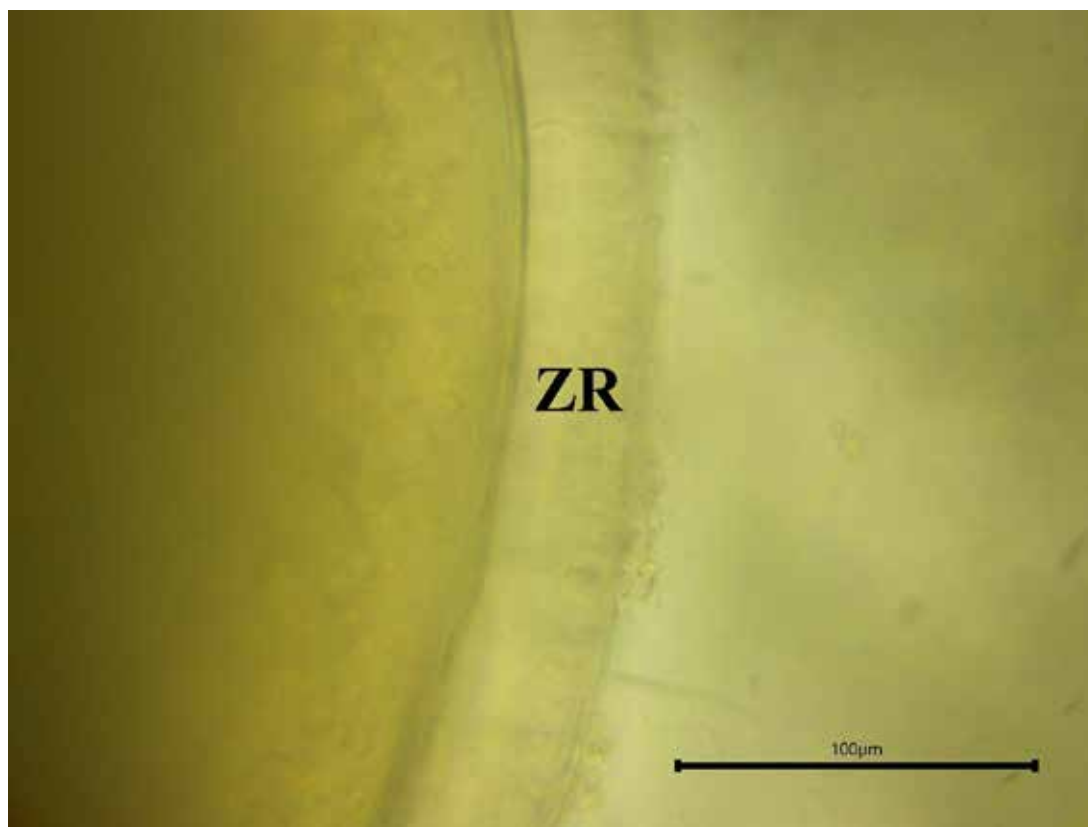


Рис. 3. *Zona radiata* (ZR) ооцитів ікринок гірчака європейського (нативний препарат)
Масштабна лінійка = 100 µm (зб. 400x)

підвидом *R. amarus*) показали, що *zona radiata* у гірчака відносно тонка порівняно з іншими коропами [36]. Зовнішній край оболонки ооциту у гірчака має специфічний гелеподібний шар: у базальній частині присутній щільний драглистий (желатиноподібний) матеріал, який виконує функцію “клею” для прикріплення ікринок всередині двостулкового моллюска (рис. 4).

Отже, ікринка гірчака європейського мала клейку оболонку, що фіксує її на внутрішній стороні зябер двостулкового моллюска. Ця адаптація є надзвичайно важливою, адже ікринки повинні утримуватися в мантийній порожнині моллюска протягом періоду інкубації, витримуючи потік води, що пропускається через зябра. Завдяки клейкій драглистій основі яйцеклітина гірчака міцно прикріплюється до зябрових пластинок і не вимивається, навіть коли моллюск частково відкриває стулки.

Окрім клейкого шару, оболонка ікринки гірчака має й інші особливості – поверхня *zona radiata* вкрита численними мікроворсинками та виростами. Ворсинки і нитки на поверхні оболонки ймовірно сприяють кращому утриманню ікринки між зябровими пластинками моллюска-хазяїна, діючи як мікроякорі в тканині зябра. Крім того, збільшення площі поверхні оболонки за рахунок ворсинок може покращувати газообмін, що критично в умовах відносно замкнутого простору всередині моллюска.

Згідно з порівняльним аналізом корейських видів гірчаків, у всіх видів *Rhodeus* зовнішня поверхня *zona radiata* формує «волосисту» структуру – густо вкрита масивними ворсинчастими виростами [37].

При дослідженні гістологічних зрізів встановлено, що в процесі дозрівання для різних генерацій яйцеклітин гірчака європейського характерний асинхронний розвиток – одночасно зустрічалися ооцити різних стадій розвитку (рис. 5.).

Перехід ооцитів гірчака з фази одношарового фолікула (фаза C) в фазу початку вакуолізації (фаза D₁) відбувався асинхронно.

У фазі D₁ на початку вакуолізації, ооцити мали середній діаметр $226,19 \pm 13,23$ мкм, ядро мало діаметр $79,99 \pm 5,14$ мкм. Вакуолі яйцеклітин дрібні та розподілені тонким шаром по периметру ооцитів, середній діаметр їх складав $6,72 \pm 1,32$ мкм.

У фазі D₂ процес вакуолізації продовжувався у напрямку до ядра, діаметр вакуолей у середньому складав $9,55 \pm 0,82$ мкм. Діаметр ооцитів при цьому складав $360,67 \pm 18,68$ мкм, ядро мало діаметр $89,74 \pm 1,33$ мкм.

Наприкінці фази D кількість вакуолей поступово зростала, досягаючи максимуму. У фазі D₃ вакуолі яйцеклітин дрібні та рівномірно розподілені по усій площі ооцитів, середній діаметр їх складав $10,78 \pm 1,05$ мкм. Діаметр самого ооциту при цьому складав



Рис. 4. Гістологічна картина будови оболонки зрілого ооциту гірчака

ZR – *zona radiata*, 2 – фолікулярна оболонка. Масштабна лінійка = 100 μm (зб. 400x)



Рис. 5. Асинхронний розвиток ооцитів гірчака: фаза C – ооцити у фазі одношарового фолікула; фаза D₁ – ооцити на початку вакуолізації; фаза D₂ – продовження вакуолізації у напрямку до ядра

ZR – zona radiata, 1 – ядро. Масштабна лінійка = 100 μm (зб. 100x)

449,53 ± 22,59 мкм. Ядро виражене, мало діаметр 99,26 ± 4,95 мкм, товщина оболонки ооцитів (zona radiata) становила 10,58 ± 2,89 мкм.

Площі яйцеклітин поступово збільшуються, від фази D₁ (початок вакуолізації) до фази D₃, коли уся цитоплазма до ядра була заповнена вакуолями, та варіюють – від 35,29 тис. мкм² до 178,89 тис. мкм².

У фазі E посилюється вітелогенез (процес синтезу та накопичення поживних речовин), та спостерігається збільшення яйцеклітин за рахунок накопичення гранул жовтка (рис. 6).

В даній фазі вакуолі досягають свого максимального розміру та перестають збільшуватись. Діаметр вакуолей складав у середньому 11,94 ± 0,99 мкм. Середній діаметр ооцитів при цьому складав 541,47 ± 52,07 мкм. Ядро виражене, мало діаметр 135,78 ± 12,86 мкм, Площі ооцитів варіювали від 181,48 тис. мкм² до 350,78 тис. мкм².

Наприкінці фази E кількість вакуолей дещо зменшується за рахунок їх злиття та подальшого накопичення у цитоплазмі ооциту гранул жовтка, що заміщує вакуолі. Також відмічено, що товщина оболонки (zona radiata) збільшується, у порівнянні із попередньою фазою, і становить у фазі E у середньому 14,64 ± 4,48 мкм.

У фазі F ооцити готові до овуляції та сягають своїх дефінітивних розмірів. Під час дозрівання відбувається зміщення ядра до периферії ооциту та

масове злиття вакуолей, що бере початок ближче до протилежного від ядра полюсу. При цьому окремі вакуолі, що не зливалися мали середній діаметр 13,25 ± 1,5 мкм. Середній діаметр ооцитів цієї фази складав 772,3 ± 4,28 мкм, ядро мало діаметр – 159,71 ± 5,48 мкм (рис. 7).

Варто зазначити, що збільшення вакуолей, у порівнянні із фазою E, не спостерігали, а незначна відмінність у параметрах пояснюється тим, що частина вакуолей зливається. Також відмічено, що товщина оболонки (zona radiata) збільшується, у порівнянні із попередньою фазою, і становить 25,22 ± 11,15 мкм.

В цей час, за сприятливих умов, розпочинається нерест гірчака. Зазвичай масовий нерест відбувається з кінця квітня і може тривати до початку серпня, хоча ми зустрічали самок із подовженими яйцекладами до кінця вересня. Восени за настання зниження температури води, нерест припиняється, а ікринки, що не було відкладено в цьому сезоні піддаються резорбції.

Головні висновки. Проведене дослідження дозволило охарактеризувати повний цикл оогенезу у гірчака європейського (*Rhodesus amarus*) в умовах Запорізького (Дніпровського) водосховища, з акцентом на морфологічні, гістологічні та морфометричні особливості розвитку ооцитів. Встановлено асинхронність дозрівання яйцеклі-

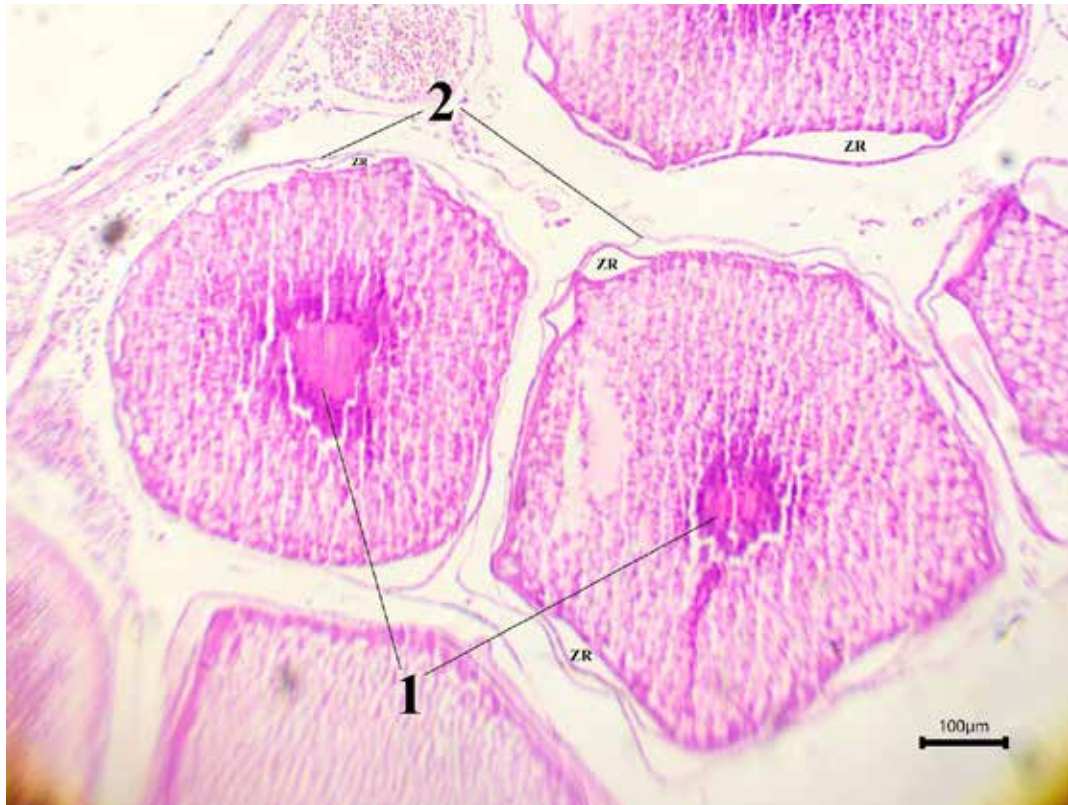


Рис. 6. Ооцити гірчака європейського у фазі D_3 (зліва) та у фазі E (справа)
ZR – zona radiata, 1 – ядро, 2 – фолікулярна оболонка. Масштабна лінійка = 100 μm (зб. 100х)



Рис. 7 Ооцит у фазі F , помітно злиття вакуолей
ZR – zona radiata, 1 – ядро, 2 – фолікулярна оболонка. Масштабна лінійка = 100 μm (зб. 100х)

тин, притаманну порційно нерестуючим видам, а також виявлено порушення у перебігу оогенезу, зокрема формування двоядерних ооцитів. Ці дані розширюють уявлення про репродуктивну біологію риб.

1. Встановлено повну гістологічну картину перебігу оогенезу гірчака європейського, включно з фазами вакуолізації, вітелогенезу та дозрівання ооцитів. Визначено морфометричні параметри яйцеклітин на кожній стадії.

2. Підтверджено, що розвиток статевих клітин у самиць *R. amarus* є асинхронним, що відповідає порційній стратегії нересту й дозволяє тривале відкладання ікри протягом сезону.

3. Зафіксовано випадок двоядерної яйцеклітини, що може свідчити про порушення мейозу або вплив негативних чинників середовища. Такі ооцити потенційно непридатні до розвитку.

4. Встановлено морфологічні особливості *zona radiata*, включаючи наявність ворсинок і клейкого шару, які забезпечують прикріплення ікринки до зябер моллюска-хазяїна під час інкубації.

Перспективи використання результатів дослідження. Дані морфометричних показників мають практичну цінність для опису біології виду і для порівняння із аналогічними дослідженнями та даними лабораторних експериментів. Крім того, відхилення від звичайного розвитку ооцитів можна розглядати як маркер екологічних змін у середовищі.

У подальших дослідженнях доцільним є розширення географії досліджень – вивчення перебігу оогенезу *Rhodeus amarus* в інших водоймах України, зокрема в умовах різного кліматичного та гідрохімічного режимів, для виявлення потенційної пластичності процесу дозрівання гонад. Провести порівняльний аналіз між популяціями – дослідити гістологічні та морфометричні особливості яйцеклітин гірчака з різних водойм з метою виявлення адаптивних відмінностей та впливу локальних екологічних чинників.

Також для реалізації заходів з реінтродукції гірчака звичайного в інші водойми, як виду внесеного до Додатку 3 Бернської конвенції варто розробляти і впроваджувати конструкції штучних нерестовищ.

Література

1. Holčík J., Jedlička L. Geographical variation of some taxonomically important characters in fishes: the case of the bitterling *Rhodeus sericeus*. *Environmental Biology of Fishes*. 1994. 41(1-4), 147-170.
2. Годлевська О. В., Фесенко Г. В. Фауна України: охоронні категорії : довідник. Вид. 2-ге, переробл. і допов. Київ, 2010. 80 с.
3. Council Directive 92/43/EEC of 21 May 1992 on the conservation of natural habitats and of wild fauna and flora. An official website of the European Union. URL: <http://data.europa.eu/eli/dir/1992/43/oj> (дата звернення: 22.07.2025).
4. Benzer S., Gül A. Biological properties of European bitterling *Rhodeus amarus* (Bloch, 1782) in Dinsiz Stream, Turkey. *Acta Aquatica: Aquatic Sciences Journal*. 2020. 7(2), 60-64.
5. Anil A. N., Mehdi I., Douda K., Smith C., Reichard, M. Reciprocal transplant experiments demonstrate a dynamic coevolutionary relationship between parasitic mussel larvae and bitterling fishes. *Freshwater Biology*. 2024. 69(11), 1525-1536.
6. Halabowski D., Reichard M., Pyrzanowski K., Zięba G., Grabowska J., Smith C., Przybylski, M. The depressed river mussel *Pseudanodonta complanata* as an occasional host for the European bitterling *Rhodeus amarus*. *Knowledge & Management of Aquatic Ecosystems*. 2024. 425, 3.
7. Halabowski D., Pyrzanowski K., Zięba G., Grabowska J., Przybylski M., Smith C., Reichard M. The impact of invasive *Sinanodonta woodiana* (Bivalvia, Unionidae) and mussel macroparasites on the egg distribution of parasitic bitterling fish in host mussels. *Scientific Reports*. 2025. 15(1), 9417.
8. Marčić Z., Prenz P., Horvatić S., Mustafić P., Zanella D., Čaleta M., Lajtner J. Is bitterling (*Rhodeus amarus* (Bloch, 1782)) threatened by the invasive unionid species *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834). *Biological Invasions*. 2024. 26(10), 3417-3431.
9. Smith C., Reichard M., Jurajda P., Przybylski M. The reproductive ecology of the European bitterling (*Rhodeus sericeus*). *Journal of Zoology*. 2004. 262(2), 107-124.
10. Ecological Risk Screening Summary European Bitterling (*Rhodeus amarus*). URL : <https://www.fws.gov/sites/default/files/documents/Ecological-Risk-Screening-Summary-European-Bitterling.pdf> (дата звернення : 22.07.2025).
11. Reichard M., Ondračková M., Bryjová A., Smith C., Bryja J. Breeding resource distribution affects selection gradients on male phenotypic traits: experimental study on lifetime reproductive success in the bitterling fish (*Rhodeus amarus*). *Evolution*. 2009. 63(2), 377-390.
12. Konečná M. Reproduction mode of European Bitterling (*Rhodeus amarus*, Bloch, 1782) determined through rapid oocyte counts and size determination using digital imaging. *Journal of Applied Ichthyology*. 2012. 28(5), 806-810.
13. Labecka A.M., Reichard M. The reproductive costs of bitterling fish and zebra mussel parasitism to a unionid mussel. *Aquaculture*. 2025. 595, 741515.
14. Mills S.C., Reynolds J.D. Operational sex ratio and alternative reproductive behaviours in the European bitterling, *Rhodeus sericeus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 2003. 54, 98-104.
15. Smith C., Spence R., Bailey R., Reichard M. Male position in a sexual network reflects mating role and body size. *Journal of Vertebrate Biology*. 2023. 72(22069), 22069-1.
16. Kujawa R., Piech P. Rearing of bitterling (*Rhodeus amarus*) larvae and fry under controlled conditions for the restitution of endangered populations. *Animals*. 2021. 11(12), 3534.
17. Reichard M., Jurajda P., Smith C. Male-male interference competition decreases spawning rate in the European bitterling (*Rhodeus sericeus*). *Behavioral ecology and Sociobiology*. 2004. 56, 34-41.

18. Tarkan A.S., Gaygusuz Ö., Gürsoy Ç., Acipinar H. Life history pattern of an Eurasian Cyprinid, *Rhodeus amarus*, in a large drinking-water system (Ömerli Dam Lake-Istanbul, Turkey). *Journal of Black Sea/Mediterranean Environment*. 2005. 11(2), 205-224.
19. Smith C., Reynolds J.D., Sutherland, W.J. Population consequences of reproductive decisions. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. 2000. 267(1450), 1327-1334.
20. Котовська Г.О. Сукцесії в угрупованнях цьоголіток риб Кременчуцького водосховища різних біоекологічних груп і промислових категорій. Вісник Дніпропетровського університету. Сер. Біологія. Екологія. 2007. Вип. 15 (1). С. 70-77.
21. Ретроспективний огляд формування іхтіокомплексу р. Оріль. / Кочет В.М., Христов О.А., Марченкова Ю.А., Бондарев Д.Л. Вісник Дніпропетровського університету. Сер. Біологія. Екологія. 2011. Вип. 19. С. 76-85.
22. Куцоконь Ю.К., Романь А.М., Щербатюк М.М. Сучасний склад рибного населення НПП Гетьманський Вісник Черкаського університету. Сер. «Біологічні науки». 2022. № 2. С. 46-52.
23. Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод / Арсан, О.М. та ін. ; за ред. В.Д Романенка. НАНУ : Ін-т гідробіології. Київ : Логос, 2006. 408 с.
24. Avwiro G. Histochemical uses of haematoxylin—a review. *Jpcs*. 2011. 1(5), 24-34.
25. Genten F., Terwinghe E., Danguy A. Atlas of fish histology. CRC Press. 2009. 224 p.
26. Kirschbaum F., Formicki K. The histology of fishes. CRC Press. 2020. 456 p.
27. Mokhtar D.M. Fish histology: from cells to organs. Apple Academic Press. 2021. 442 p.
28. Khendel N.V. Rehla metatsia provedennia eksperymentiv nad tvarynami: mizhnarodni ta natsionalni pravovi standarty. *Ukrainian Journal of International Law*. 2013. 71-76.
29. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes (Text with EEA relevance) : Directive / Official Journal of the European Union L276/33. URL: <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2010/63/oj/eng> (дата звернення: 22.07.2025).
30. Положення про Комітет з питань етики (біоетики): Наказ Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України № 1287 від 19.11.2012 р. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v1287736-12#n12>. (дата звернення: 22.07.2025).
31. Kang H.J., Rosenwaks Z. Triploidy – the breakdown of monogamy between sperm and egg. *International journal of developmental biology*. 2008. 52(5), 449.
32. Habil G.D., Holban E., Jawdhari A., Sadica I. Review on Polypodium Hydri forme Infestation of Sturgeon Eggs and Its Implications in Species Conservation. In: *E3S Web of Conferences*. EDP Sciences. 2023. Vol. 437, p. 02007.
33. Abass N.Y. The influence of heavy metals on cytotoxicity in *Tilapia zillii*. *Aquaculture International*. 2024. 32(7), 9079-9098.
34. Bera T., Kumar S.V., Devi M.S., Kumar V., Behera B.K., Das B.K. Effect of heavy metals in fish reproduction: A review. *Journal of Environmental Biology*. 2022. 43(5), 631-642.
35. Park C.W., Kim J.G. A Comparative Morphological Study on the Characteristics of Egg Envelopes of Three Cultrinae Fishes (Cyprinidae, Teleostei) in Korea. *Life*. 2024. 14(7), 840.
36. Khlopova A.V., Varaksin A.A. Structure of the ovipositor and ovary and the features of reproduction in Amur bitterling *Rhodeus sericeus* (Cyprinidae: Acheilognathinae). *Journal of Ichthyology*. 2011. 51(2), 198-208.
37. Choi S.J., Yun S.W., Park J.Y. Comparative Morphology of the Zona Radiata in Oocytes of Korean Bitterlings from the Genera *Rhodeus*, and *Acheilognathus* (Cyprinidae). *Journal of Ichthyology*. 2023. 63(4), 781-787.

Дата першого надходження рукопису до видання: 25.07.2025

Дата прийнятого до друку рукопису після рецензування: 25.08.2025

Дата публікації: